



## 研究报告

## 玉米赤霉烯酮降解菌的鉴定及其降解特性

陈禹竹<sup>Δ1,2</sup> 唐琦勇<sup>Δ1</sup> 张立慧<sup>3</sup> 顾美英<sup>1</sup> 楚敏<sup>1</sup> 朱静<sup>1</sup> 艾尼江·尔斯满<sup>1</sup> 孙建<sup>1</sup>  
张志东<sup>\*1,2</sup>

1 新疆农业科学院微生物应用研究所 新疆特殊环境微生物实验室 新疆 乌鲁木齐 830091

2 新疆大学生命科学与技术学院 新疆 乌鲁木齐 830046

3 南京师范大学食品与制药工程学院 江苏 南京 210097

**摘要:**【背景】玉米赤霉烯酮(Zearalenone, ZEN)是一种具有类雌激素作用的霉菌毒素,常会污染谷物和饲料,严重威胁动物和人类的健康。生物脱毒作为理想的去除 ZEN 的方法,广受关注,然而相关菌株较少,仍有待进一步筛选。【目的】明确一株玉米赤霉烯酮降解菌的生物学分类地位,并优化其赤霉烯酮降解菌降解条件。【方法】通过菌株的 16S rRNA 基因序列比对,构建系统发育进化树,并开展了相关培养条件的单因素优化和玉米赤霉烯酮降解动力曲线的绘制。【结果】实验菌株 WLB-29 经鉴定为斯塔普氏菌属(*Stappia*),其 16S rRNA 基因序列在 GenBank 上登录号为 MT196321,该序列与模式菌株 *Stappia indica* B106<sup>T</sup> 相似性最高为 97.47%,初步确定为斯塔普氏菌属潜在新种。单因素优化表明,菌株降解玉米赤霉烯酮的最佳条件为 LB 培养基、37 °C 培养、pH 8.0、2%接种量和玉米赤霉烯酮初始浓度为 10 mg/L,在此条件下培养 144 h 后,玉米赤霉烯酮的降解率最高可达 92.56%。【结论】菌株 WLB-29 具有较好的 ZEN 降解作用,为进一步解析菌株降解 ZEN 作用机理提供了研究基础,也为进一步开发利用菌株开展 ZEN 的生物脱毒提供了新的菌株资源。

**关键词:** 玉米赤霉烯酮, 斯塔普氏菌, 降解, 条件优化

**Foundation items:** Tianshan Pine Plan in Xinjiang Uygur Autonomous Region (2017XS26); National Natural Science Foundation of China (31560034); National Natural Science Foundation for Youths of Jiangsu Province (BK20170988); Basic Scientific Research Business Funded Projects for Xinjiang Uygur Autonomous Region Public Welfare Scientific Research Institutes (KY2018011)

ΔThese authors equally contributed to this work

\*Corresponding author: Tel: 86-991-4520524; E-mail: zhangzheedong@sohu.com

Received: 11-03-2020; Accepted: 22-05-2020; Published online: 13-10-2020

基金项目: 新疆维吾尔自治区“天山雪松计划”(2017XS26); 国家自然科学基金(31560034); 江苏省自然科学基金青年项目(BK20170988); 新疆维吾尔自治区公益性科研院所基本科研业务经费(KY2018011)

Δ对本文贡献相同

\*通信作者: Tel: 0991-4520524; E-mail: zhangzheedong@sohu.com

收稿日期: 2020-03-11; 接受日期: 2020-05-22; 网络首发日期: 2020-10-13

## Identification and degradation characteristics of a zearalenone degrading bacterium

CHEN Yuzhu<sup>Δ1,2</sup> TANG Qiyong<sup>Δ1</sup> ZHANG Lihui<sup>3</sup> GU Meiyong<sup>1</sup> CHU Min<sup>1</sup>  
ZHU Jing<sup>1</sup> Ghenijan Osman<sup>1</sup> SUN Jian<sup>1</sup> ZHANG Zhidong<sup>\*1,2</sup>

1 Institute of Applied Microbiology, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Xinjiang Laboratory of Special Environmental Microbiology, Urumqi, Xinjiang 830091, China

2 College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi, Xinjiang 830046, China

3 School of Food Science and Pharmaceutical Engineering, Nanjing Normal University, Nanjing, Jiangsu 210097, China

**Abstract:** [Background] Zealenone (ZEN) is a mycotoxin with estrogen-like effect, which often contaminates grains and feed, and threatens the health of animals and humans seriously. As an ideal method to remove ZEN, the biological detoxification has been received with wide attentions. However, there are few related degradation strains, which need to be further screened. [Objective] To clarify the biological classification status of a ZEN-degrading bacterium and optimize the degradation conditions. [Methods] The phylogenetic tree was constructed by 16S rRNA gene sequences. Optimization of culture conditions with single factor analysis was carried out, and degradation kinetic of ZEN was analyzed. [Results] Based on 16S rRNA gene sequence similarities, the closest relative of WLB-29 was *Stappia indica* B106<sup>T</sup> (97.47%), which suggested WLB-29 was a potential novel species of the genus *Stappia* (GenBank accession number MT196321). Results of the optimization showed that the best conditions for strains to degrade ZEN were followed: LB culture medium, 37 °C, pH 8.0, 2% inoculum and initial concentration of 10 mg/L ZEN. Under the conditions, the degradation rate could reach 92.56% after cultured 144 hours. [Conclusion] The strain WLB-29 could degrade ZEN. It provides a research basis for further analyzing the mechanism of ZEN degradation by the strain, and utilization of the strain to ZEN detoxification in future.

**Keywords:** zearalenone, *Stappia*, degradation, condition optimization

玉米赤霉烯酮(Zearalenone, ZEN), 又称为 F-2 毒素, 是由镰刀菌产生的一种次级代谢产物, Stob 等<sup>[1]</sup>1962 年首次从禾谷镰刀菌感染的玉米中分离出来, 现已发现多种镰刀菌属菌株可生物合成 ZEN。ZEN 具有强烈的雌激素活性, 在人和动物体内积累会导致体内激素平衡紊乱, 表现出生殖毒性和免疫毒性、影响肝细胞功能、诱发肾功能障碍等; 同时, ZEN 也对血液系统、内分泌系统、神经系统有着不同程度的影响, 并与多种癌症的发生有着一定的关联<sup>[2-4]</sup>。因此, 开展玉米赤霉烯酮脱毒技术的研究, 对于提高畜禽生产、保障食品安全有着重要的意义。

目前, 玉米赤霉烯酮的脱毒技术已引起了人们的高度重视, 主要是利用物理、化学和生物脱毒法<sup>[2,5]</sup>来处理毒素, 其中, 生物脱毒法是利用某些功能微生物吸附毒素, 或其代谢产物如分泌的

酶分解毒素<sup>[2,6]</sup>, 从而达到降低产品中 ZEN 含量或降低其毒性的目的, 该方法成本低、效率高、特异性强、无污染且不破坏原料成分, 有着其他方法难以取代的优势, 逐渐成为研究热点。在前期研究中, 真菌降解 ZEN 作用的研究报道较多, 先后发现 *Aspergillus*、*Penicillium*、*Rhizopus*、*Trichosporon* 等菌具有降解 ZEN 的能力, 并能催化 ZEN 生成  $\alpha$ -玉米赤霉烯醇( $\alpha$ -Zearalenol)、 $\beta$ -玉米赤霉烯醇( $\beta$ -Zearalenol)、Zearalenone-4-O-Sulfate 等<sup>[6-8]</sup>。近年来, 细菌由于具有易培养、培养时间短和降解能力强等特点, 受到越来越多的关注, 已发现芽孢杆菌属、假单胞菌属、节杆菌属和酪丁酸梭菌等<sup>[9-15]</sup>均对 ZEN 有去除能力, 而且呈现不同的作用机理。

在本研究前期, 发现盐碱土壤中存在着丰富的酚类化合物降解菌<sup>[16]</sup>。本实验以 ZEN 为单一碳源,

从盐角草根际土壤筛选出一株具有 ZEN 降解能力的菌株, 并进行了菌株鉴定及其降解特性的研究, 以期后续 ZEN 降解机理的阐释和功能基因的挖掘提供研究基础和科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验菌株

菌株 WLB-29 分离自盐角草根际土壤<sup>[17]</sup>, 保存于新疆微生物资源保藏管理中心(Microbiological Culture Collection Center of Xinjiang, MCCCX)。

### 1.2 主要试剂和仪器及培养基

玉米赤霉烯酮(标准品), 上海源叶生物科技有限公司; 甲醇(色谱纯)、乙腈(色谱纯), 赛默飞世尔(Fisher)科技中国有限公司; Genview 细菌基因组 DNA 提取试剂盒, 北京鼎国昌盛生物技术有限公司; LB 培养基、TSB 培养基、R2A 培养基和 NB 培养基, 青岛高科园海博生物技术有限公司; M 培养基(海生菌肉汤 2216), 上海创赛科技有限公司。

超声波细胞破碎仪, Branson 公司; 高效液相色谱仪(HPLC), Agilent 公司。

无机盐培养基(g/L):  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  2.44,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.52,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.50,  $\text{MgSO}_4$  0.20,  $\text{CaCl}_2$  0.05, 琼脂 20.00, pH 7.2。

### 1.3 菌株的培养特性

分别接种菌株至含有 10 mg/L ZEN 的无机盐培养基平板和 LB 培养基斜面上, 30 °C 恒温培养 3 d, 置于 4 °C 保存, 备用。菌体镜检染色采用结晶紫染色法。

菌株单一碳源利用分析采用 Biolog GenII 鉴定板, 挑取少量新鲜培养的菌体制备菌悬液, 接种到 Biolog GenII 鉴定板, 于 28 °C 恒温培养 48 h, 利用 Biolog 自动微生物鉴定系统读取数据, 分析其单一碳源利用情况。

菌株的生长温度耐受(10、45 °C)测定采用 LB 培养基平板进行; 菌株耐盐特性的测定采用含有不同浓度 NaCl (2%、5%、10%) 的 LB 培养基平板进

行; 菌株耐 ZEN 特性的测定采用含有不同浓度 ZEN (10、20、40、60 mg/L) 的无机盐培养基平板进行。

### 1.4 菌株的分子鉴定

挑取少量新鲜菌体作为 PCR 扩增模板, 采用细菌 16S rRNA 基因序列 PCR 通用引物 27F (5'-A GAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-AA GGAGGTGATCCAGCCCGCA-3'), 扩增实验菌株目的片段。PCR 反应体系(50  $\mu\text{L}$ ): 2×Mix 25  $\mu\text{L}$ , 正、反向引物(10  $\mu\text{mol/L}$ )各 1  $\mu\text{L}$ , ddH<sub>2</sub>O 23  $\mu\text{L}$ 。PCR 反应条件: 94 °C 5 min; 94 °C 30 s, 54 °C 30 s, 72 °C 90 s, 35 个循环; 72 °C 10 min。PCR 扩增产物经纯化回收, 送至北京鼎国昌盛生物技术有限公司进行测序。

所得序列经人工校对后, 分别上传至 EzTaxon 数据库和 GenBank 数据库进行 BLAST 比对, 调取相近的模式菌株序列。序列相似性分析和 NJ 系统发育树(Bootstrap Value=1 000)构建采用 MEGA 7.0 软件, 以初步明确实验菌株 WLB-29 的分类地位<sup>[17]</sup>。

### 1.5 ZEN 的 HPLC 标准曲线的绘制

采用 Agilent 1260 高效液相色谱仪对 ZEN 含量进行测定, 色谱柱为安捷伦 ZORBAX Eclipse XDB-C18 柱(4.6 mm×150 mm, 粒径 5 mm); 流动相为乙腈:水:甲醇=46:46:8 (体积比); 流速为 0.8 mL/min; 进样量为 10  $\mu\text{L}$ ; 柱温为 30 °C; 检测波长为 254 nm。

分别配制浓度为 0.5、1.0、2.5、5.0、7.5、10.0、20.0 mg/L 的 ZEN 标准溶液。在上述色谱条件下, 依次从低浓度到高浓度进样, 记录各样品 ZEN 峰面积  $A$  (mAU·S), 并与对应标准溶液浓度  $c$  (mg/L) 绘制 ZEN 标准曲线。

### 1.6 待检测样品的预处理和 HPLC 检测

取 1 mL 发酵液, 加入等体积的甲醇充分混匀, 使用超声波处理 10 min (功率 20 kHz, 工作时间 3 s, 间歇时间 3 s), 然后 8 000 r/min 离心 5 min, 吸取上清液, 并利用有机滤膜(0.22  $\mu\text{m}$ )过滤, 所得溶液上机检测<sup>[8]</sup>, 并计算 ZEN 的降解率。

ZEN 的降解率(%)=

$$\frac{\text{ZEN初始含量} - \text{ZEN检测量}}{\text{ZEN初始含量}} \times 100。$$

### 1.7 培养条件对菌株降解 ZEN 的影响

实验初始条件为取菌种活化后的种子液 1 mL, 接种到 100 mL 的 LB 液体培养基中, 30 °C、120 r/min 振荡培养 120 h 后, 取样检测菌液  $OD_{600}$  值和 ZEN 浓度, 并计算 ZEN 降解率。

在此基础上, 通过单因素优化, 考察不同培养基(LB、NB、MA、R2A、TSB)、不同温度(20、25、30、37、42 °C)、不同初始 pH 值(6.0、6.5、7.0、7.5、8.0)、不同菌液接种量(0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%)和不同 ZEN 浓度(2、4、6、8、10 mg/L)对菌株降解 ZEN 能力的影响, 每个条件设置 3 个重复, 并进行条件优化<sup>[13,15]</sup>。

### 1.8 菌株降解 ZEN 的动力曲线

在各条件因素优化的基础上进行菌种发酵培养, 培养试验设置 3 个重复, 每 24 h 取一次培养液, 测定  $OD_{600}$  值并分析培养基中 ZEN 的浓度, 绘制菌体生长和 ZEN 降解随时间变化的曲线。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌株的分离及鉴定

菌株 WLB-29 分离自乌拉泊盐湖周边植物盐角草根际土壤, 相关样品接入以 10 mg/L ZEN 为唯一碳源的无机盐培养基, 于 30 °C、120 r/min 条件下振荡富集培养 4 d 后, 富集液经梯度稀释、涂布, 待菌落长出后, 根据菌落在 ZEN 为唯一碳源培养基中的生长速度、形态、大小及颜色初筛, 再通过检测降解效率进行复筛而获得试验菌株<sup>[11]</sup>。

通过培养发现, 菌株 WLB-29 为革兰氏阴性、球状细菌, 可在 LB、TSB 等营养丰富的培养基上良好生长, 也可以在 R2A、MA 及以 ZEN 为单一碳源的无机盐培养基等贫营养培养基上良好生长。通过 Biolog 碳源实验表明, 菌株可以利用的碳源物质主要有 D-果糖、柠檬酸、D-甘露醇、 $\alpha$ -酮戊二酸和 L-谷氨酸等。在以 ZEN 为单一碳源的无机

盐培养基上, 菌株可在 10–40 mg/L ZEN 条件下良好生长, 可耐 10% 的 NaCl, 生长温度范围在 10–45 °C。采用 LB 培养基于 30 °C 培养 2 d, 其菌落形态呈圆形, 较小(直径约为 1 mm), 乳白色, 表面湿润、有光泽, 半透明, 边缘比较平整(图 1)。

通过对菌株 WLB-29 的 16S rRNA 基因序列进行扩增和测序, 上传其 16S rRNA 基因序列至 GenBank (登录号为 MT196321), 并构建了其 NJ 系统发育树(图 2)。结果表明, 菌株 WLB-29 归属于斯塔普氏属(*Stappia*), 与其相似性最高的模式菌株为印度洋斯塔普氏菌(*Stappia indica* B106<sup>T</sup>), 两者序列相似度为 97.47%, 初步确定该菌株为斯塔普氏属(*Stappia*)潜在新种, 有待进一步系统鉴定分类。

### 2.2 ZEN 的标准曲线绘制

HPLC 检测 ZEN 标准品的色谱图如图 3 所示, 在实验采用的色谱条件下, ZEN 标准品的保留时间为 8.726 min, 色谱波峰完整, 对称性良好, 分辨率较好。不同浓度的 ZEN 出峰时间稳定, 即使在最低浓度 0.5 mg/L 时, 波峰仍较为完整, 可有效检出。

根据峰面积和 ZEN 浓度关系绘制其标准曲线(图 4), 计算得到回归方程为  $Y=19.010X-3.115$ ,  $R^2=0.999$ , 其在检测范围 0.5–20 mg/L 内线性关系良好, 可有效检测出溶液中的 ZEN。

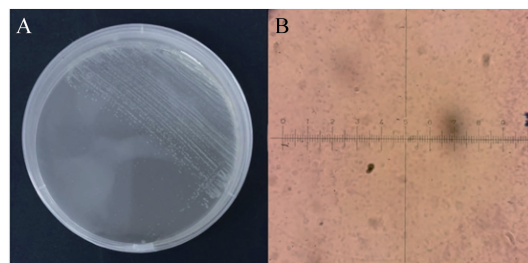


图 1 菌株 WLB-29 的 LB 培养基培养的菌落形态(A)和细菌形态(B)

Figure 1 The colony (A) and cell morphology (B) of strain WLB-29 on LB medium agar

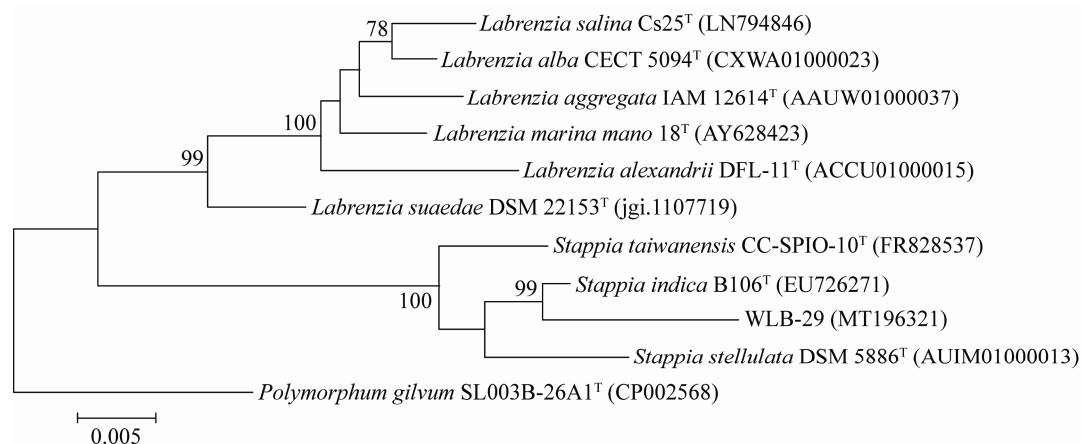


图2 菌株 WLB-29 的 16S rRNA 基因序列系统发育树

Figure 2 The phylogenetic tree of strain WLB-29 based on 16S rRNA gene sequences

注: 括号中的序号代表菌株的 GenBank 登录号; 分支点上的数字代表计算 1 000 次聚类到一起的几率; 标尺刻度代表 0.5% 的序列差异

Note: The sequence number in the bracket means the GenBank accession number of the strain. The number at the node means the percentage of occurrence in 1 000 boot-strapped trees. The scale bar means 0.5% sequence difference

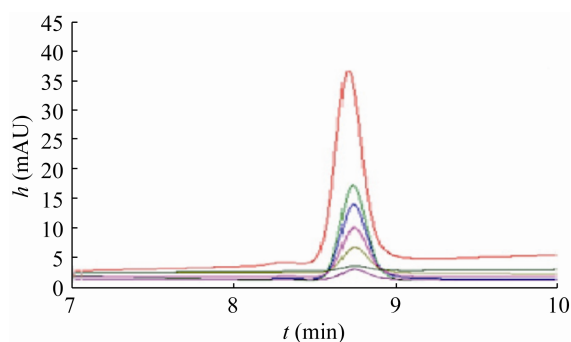


图3 不同浓度 ZEN 的 HPLC 峰图

Figure 3 HPLC chromatogram of the ZEN under different concentrations

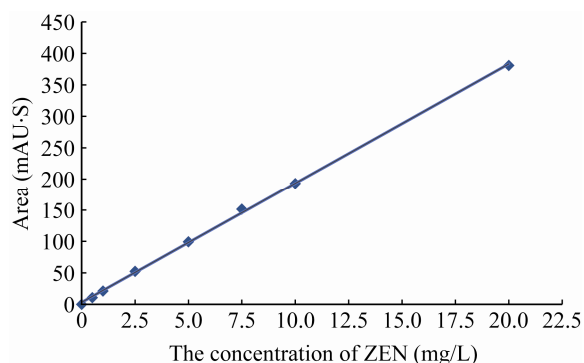


图4 ZEN 的标准曲线

Figure 4 The standard curve of ZEN

## 2.3 培养条件对菌株降解 ZEN 的影响

### 2.3.1 培养基对菌株降解 ZEN 的影响

使用不同培养基分析培养基对菌株 WLB-29 的生长和降解率的影响, 结果如图 5 所示。由图 5 可知, 菌株在 LB 液体培养基上生长最好, 最大生长  $OD_{600}$  值可达 2.5 左右, 而 MA 培养基上菌株生长最差, 其  $OD_{600}$  仅能达到 0.6 左右。在 ZEN 降解方面, LB 培养过程中菌株降解率最高, 可达 51% 左右, 而使用其他培养基时菌株 ZEN 的降解率均不超过 7%。因此, 后续试验均采用 LB 培养基进行条件优化。

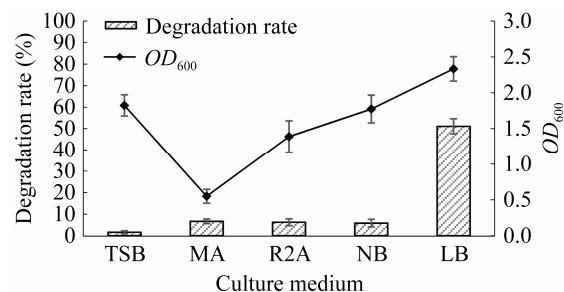


图5 培养基对菌株生长和 ZEN 降解效率的影响

Figure 5 Effect of culture media on the growth and degradation rate of ZEN



### 2.3.2 接种量对菌株降解 ZEN 的影响

在发酵过程中,采用较大的接种量可以缩短发酵时间,使产物的形成提前到来,实验分析了接种量对菌株 WLB-29 生长和 ZEN 降解率的影响。由图 6 可见,在实验中菌液  $OD_{600}$  值随着菌液接种量的增大略有减小,但并不明显。在 ZEN 降解方面,降解率随着接种量的增大呈现了增加的趋势,这表明较大的菌液接种量有利于菌株 WLB-29 降解 ZEN;当菌液接种量为 2% 时,菌株对 ZEN 降解能力最高,其降解率可达到 60.53%。

### 2.3.3 培养温度对菌株降解 ZEN 的影响

实验使用菌株生长较为明显的多个温度,对菌株 WLB-29 生长和 ZEN 降解情况进行了分析。由图 7 可知,菌株在实验所用的温度范围中均能较好地生长,最适生长温度范围在 30–42 °C。在 ZEN 降解情况方面,在 20–37 °C 内,菌株对 ZEN 降解

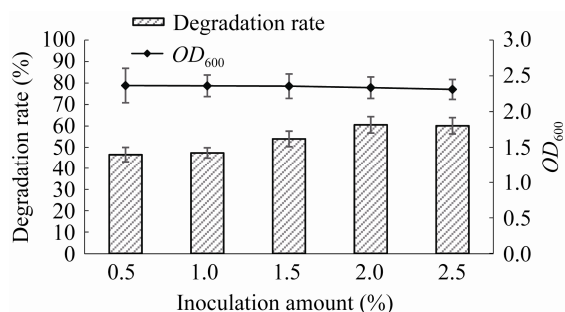


图 6 接种量对菌株生长和 ZEN 降解效率的影响

Figure 6 Effect of inoculation amount on the growth and degradation rate of ZEN

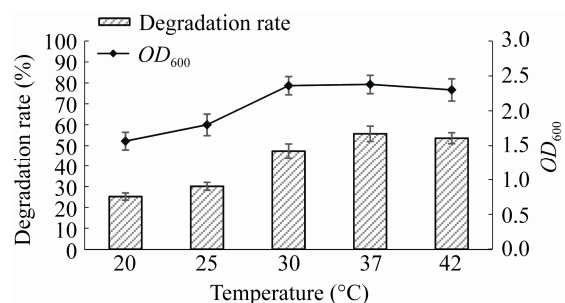


图 7 培养温度对菌株生长和 ZEN 降解效率的影响

Figure 7 Effect of culture temperature on the growth and degradation rate of ZEN

率随着菌株生长  $OD_{600}$  增加而增加;在最适生长温度区间, 37 °C 培养时菌株 ZEN 降解率最高, 降解率最大为 55.74%;当温度继续升高至 42 °C 时, ZEN 降解率逐渐下降。因此, 后续实验菌株培养采用 37 °C 培养。

### 2.3.4 培养基初始 pH 值对菌株降解 ZEN 的影响

培养基初始 pH 值对菌株 WLB-29 生长和 ZEN 的降解率的影响见图 8。在实验中菌株的  $OD_{600}$  值与培养基初始 pH 值呈负相关, 初始 pH 值越大, 菌株的  $OD_{600}$  值越小。然而菌株对 ZEN 的降解率与培养基的初始 pH 值呈正相关, 随着 pH 的增加, ZEN 的降解率也逐渐增大, 在 pH 值为 8.0 时菌株对 ZEN 的降解率最高, 降解率可达到 75.80%。

### 2.3.5 ZEN 浓度对菌株降解 ZEN 的影响

如图 9 所示, 菌株 WLB-29 的生长和 ZEN 的降解率受 ZEN 浓度的直接影响, 其中, 当培养基中 ZEN 浓度增大时, 发酵液中微生物细胞浓度呈下降趋势, 这可能与 ZEN 对菌株 WLB-29 细胞有毒副作用有关。同时, ZEN 的降解率受培养基中 ZEN 浓度加大的影响非常明显, 当培养基中 ZEN 浓度低于 6 mg/L 时菌株降解效率较低;当大于 8 mg/L 时其降解效率明显提高, 但继续增加培养基中 ZEN 浓度时降解率增加不明显。

## 2.4 菌株对 ZEN 的降解动力学

采用优化后条件, 即: 使用 ZEN 终浓度为 10 mg/L 的 LB 液体培养基, 菌液接种量为 2%, 初

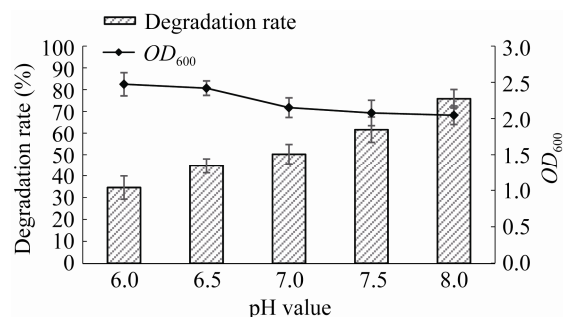


图 8 pH 值对菌株生长和 ZEN 降解效率的影响

Figure 8 Effect of pH value on the growth and the degradation rate of ZEN

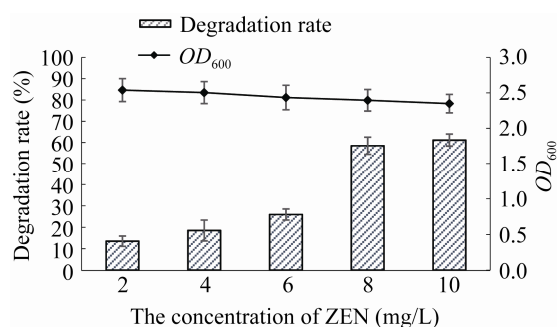


图9 不同 ZEN 浓度对菌株 WLB-29 的生长和降解效率影响

Figure 9 Effects of ZEN concentration on the growth of WLB-29 and the degradation of ZEN

始 pH 为 8.0, 发酵温度 37 °C, 定期检测菌液浓度和培养基中 ZEN 的含量, 并计算其降解率, 绘制菌株的生长曲线和 ZEN 降解曲线。如图 10 所示, 菌株接种 8 h 后进入对数期, 发酵 48 h 后逐渐进入稳定期; 菌株 WLB-29 对 ZEN 的降解伴随着整个菌株的生长过程, 而且与发酵时间呈线性关系, 降解过程在菌株进入稳定期后仍可对 ZEN 进行有效降解, 培养至 144 h 时降解率最高可达到 92.56%。

同时, 分别对实验中菌株生长 12 h 和 144 h 的发酵液进行 HPLC 检测, 色谱图见图 11。由图 11 可见, 与菌株生长 12 h 后的发酵液相比, 144 h 的发酵液中 ZEN 几乎完全降解, 但其在 HPLC 检测 1.0、3.0、4.0、7.3、7.7 min 中相关产物峰值明显

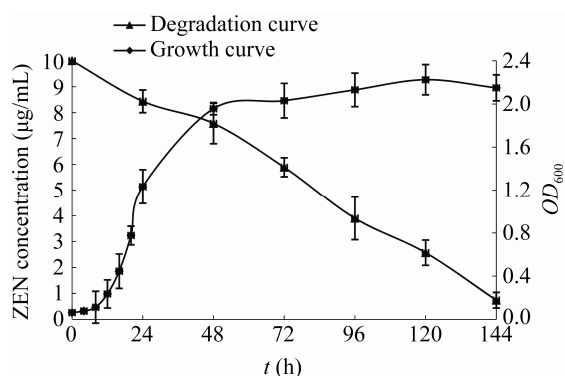


图10 菌株降解 ZEN 的动力曲线

Figure 11 Kinetic curve of ZEN degradation by strain WLB-29

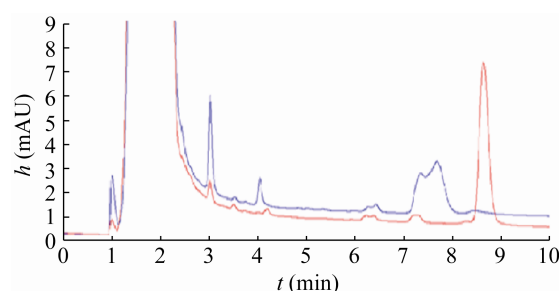


图11 菌株生长不同时间后发酵液的 HPLC 色谱图

Figure 11 Difference at HPLC chromatogram of fermentation liquid after the strain cultured for 12 h and 144 h

增加。由于本次 HPLC 采用的紫外光检测器(波长: 254 nm)其着色基团主要为苯环, 因此初步可以推断, 菌株对 ZEN 降解主要发生在其内酯环, 并形成了多种苯类化合物, 但相关化合物具体结构有待进一步验证。

### 3 讨论与结论

耐盐菌可降解多种难降解有机化合物, 特别是在化工有机污水处理中有着明显的优势, 国内外也在各类盐环境中分离出大量多酚类化合物降解菌<sup>[17-20]</sup>。在本研究中, 从盐角草根际土壤中分离得到一株具有 ZEN 降解能力的菌株 WLB-29, 经分子鉴定其与最近的模式菌株 *Stappia indica* B106<sup>T</sup> 相似性最高, 序列相似度为 97.47%, 初步确定该菌株为斯塔普氏属(*Stappia*)潜在新种。星形斯塔普氏菌(*Stappia stellulatum*)作为该属的模式菌, 最早是在研究海洋形成星状聚集现象微生物中分离获得, 最早被划分到农杆菌属(*Agrobacterium*), 命名为星形农杆菌(*Agrobacterium stellulatum*), 于 1998 年通过重新鉴定后建立了斯塔普氏属(*Stappia*), 目前该属总计 3 个种<sup>[21]</sup>, 其中, 星形斯塔普氏菌(*Stappia stellulatum*)和印度洋斯塔普氏菌(*Stappia indica*)分离自海洋, 而台湾斯塔普氏菌(*Stappia taiwanensis*)分离自中国台湾滨海温泉, 此前鲜见陆地来源该属菌株的报道。目前该属菌株的功能仅有 CO 氧化和 PHA 产生的相关报道<sup>[22-23]</sup>, 尚无有关降解 ZEN 的报道。

通过对该菌株降解 ZEN 条件优化, 在培养基中加入 ZEN, 该菌降解最佳条件为: LB 培养基、37 °C 培养、pH 8.0、2%接种量和 ZEN 初始浓度为 10 mg/L, 培养 144 h 后, ZEN 的降解率最高可达 92.56%。在 ZEN 降解动力学研究中分析发现, 该菌降解 ZEN 的过程伴随着整个菌株生长状态, 而且与发酵时间呈线性关系, 即使菌株进入平稳期和衰亡期, 其降解能力未见明显下降, 鉴于该菌在 ZEN 降解能力与菌浓度和菌的生长状态无对应关系, 推断该菌降解 ZEN 主要与菌体初期产生的降解酶有关, 而且该酶较为稳定, 具体降解机理还有待进一步分析和研究。

研究发现, 菌株可以采用多种形式进行玉米赤霉烯酮的生物处理。Kamimura<sup>[8]</sup>发现根霉菌是少数能将 ZEN 转化玉米赤霉烯酮 4- $\beta$ -D-葡萄糖苷的真菌, 而且还可以转化为  $\alpha$ -和  $\beta$ -玉米赤霉烯醇等低毒化合物。余元善<sup>[6]</sup>从农作物耕地样品中分离得到一株能有效降解 ZEN 的不动杆菌, 通过采用营养简单的培养基液体发酵和产物提取, 获得了 Thiol-Redoxin 过氧化物酶组分, 并证明了该酶组分在碱性条件下可表现出很强的过氧化物酶活性, 导致 ZEN 中的苯环发生氧化断裂。郑文秀等<sup>[15]</sup>发现驯化后的酪丁酸梭菌经过热、酸处理后具有良好的吸附 ZEN 能力, 当菌体密度为  $1.0 \times 10^{11}$  个/mL 时吸附率可达 98.5%。本研究中, 通过与菌株生长 12 h 和 144 h 的发酵液相比, 144 h 的发酵液中 ZEN 几乎完全降解, 但其在 HPLC 检测 1.0、3.0、4.0、7.3、7.7 min 中, 相关产物峰值明显增加, 初步推断菌株对 ZEN 的降解主要发生在其内酯环, 并形成了多种苯类化合物, 相关推断和化合物具体结构有待进一步验证。

## REFERENCES

- [1] Stob M, Baldwin RS, Tuite J, Andrews FN, Gillette KG. Isolation of an anabolic, uterotrophic compound from corn infected with *Gibberella zeae*[J]. *Nature*, 1962, 196(4861): 1318
- [2] Liu YQ, Wu YD, Jin ZH, Zhao XS, Wang JZ, Liu YB, Wu J. Research progress on toxicity and detoxification of zearalenone[J]. *Guangzhou Chemical Industry*, 2016, 44(13): 6-8 (in Chinese)
- [3] 刘跃芹, 吴延东, 金贞花, 赵雪松, 王金枝, 刘艳波, 吴杰. 玉米赤霉烯酮的毒性及脱毒研究进展[J]. *广州化工*, 2016, 44(13): 6-8
- [4] Yu ZL. Study on the effects of environmental estrogens on proliferation in estrogen-responsive tumor cells and the mechanisms[D]. Chengdu: Doctoral Dissertation of Sichuan University, 2003 (in Chinese)
- [5] 余增丽. 环境雌激素对三种雌激素反应性肿瘤细胞增殖的影响及其作用机制研究[D]. 成都: 四川大学博士学位论文, 2003
- [6] Zhou YF. The harm of mycotoxin to swines[J]. *Swine Industry Science*, 2017, 34(1): 138-139 (in Chinese)
- [7] 周彦飞. 霉菌毒素对猪只的危害[J]. *猪业科学*, 2017, 34(1): 138-139
- [8] Deng J. Control mycotoxin contamination in corn with ozone gas[D]. Tianjin: Master's Thesis of Tianjin University of Science and Technology, 2011 (in Chinese)
- [9] 邓捷. 臭氧在控制玉米真菌毒素污染中的应用[D]. 天津: 天津科技大学硕士学位论文, 2011
- [10] Yu YS. Study on zearalenone degradation by *Acinetobacter* sp. SM04[D]. Guangzhou: Doctoral Dissertation of South China University of Technology, 2011 (in Chinese)
- [11] 余元善. *Acinetobacter* sp. SM04 降解玉米赤霉烯酮的研究[D]. 广州: 华南理工大学博士学位论文, 2011
- [12] Molnar O, Schatzmayr G, Fuchs E, Prillinger H. *Trichosporon mycotoxinivorans* sp. nov., a new yeast species useful in biological detoxification of various mycotoxins[J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2004, 27(6): 661-671
- [13] Kamimura H. Conversion of zearalenone to zearalenone glycoside by *Rhizopus* sp.[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1986, 52(3): 515-519
- [14] Ge CC, Xiong J, Zhao C, Shen L, Zhang XL. Screening and identification of degradation zearalenone *Bacillus*[J]. *Science and Technology of Cereals, Oils and Foods*, 2016, 24(3): 86-97 (in Chinese)
- [15] 葛婵婵, 熊捷, 赵晨, 申琳, 张晓琳. 降解玉米赤霉烯酮芽孢杆菌的筛选和鉴定[J]. *粮油食品科技*, 2016, 24(3): 86-97
- [16] Zhou WW. Screening of microorganism with ZEN degradation function and isolation, properties study of related enzyme[D]. Hefei: Master's Thesis of Hefei University of Technology, 2014 (in Chinese)
- [17] 周伟伟. 玉米赤霉烯酮降解微生物的筛选和相关酶的分离纯化、特性研究[D]. 合肥: 合肥工业大学硕士学位论文, 2014



- [11] Yi PJ, Pai CK, Liu JR. Isolation and characterization of a *Bacillus licheniformis* strain capable of degrading zearalenone[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2011, 27(5): 1035-1043
- [12] Megharaj M, Wittich RM, Blasco R, Pieper DH, Timmis KN. Superior survival and degradation of dibenzo-*p*-dioxin and dibenzofuran in soil by soil-adapted *Sphingomonas* sp. strain RW1[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 1997, 48(1): 109-114
- [13] Xu JH, Wang HJ, Zhu ZW, Ji F, Yin XC, Hong Q, Shi JR. Isolation and characterization of *Bacillus amyloliquefaciens* ZDS-1: exploring the degradation of zearalenone by *Bacillus* spp.[J]. Food Control, 2016, 68: 244-250
- [14] Mokoena MP, Chelule PK, Gqaleni N. Reduction of fumonisin B<sub>1</sub> and zearalenone by lactic acid bacteria in fermented maize meal[J]. Journal of Food Protection, 2005, 68(10): 2095-2099
- [15] Zheng WX, Zhao QR, Jiang L, Huang H, Zhu LY. Remove zearalenone in fodder by *Clostridium tyrobutyricum*[J]. Chinese Journal of Bioprocess Engineering, 2019, 17(5): 490-496 (in Chinese)  
郑文秀, 赵倩如, 江凌, 黄和, 朱丽英. 酪丁酸梭菌清除饲料中玉米赤霉烯酮的能力[J]. 生物加工过程, 2019, 17(5): 490-496
- [16] Song XX. The screening of halophiles and salt-tolerant phenol degrading bacteria in Badain Jaran desert salt lake and characteristics degradation of phenol[D]. Hohhot: Master's Thesis of Inner Mongolia University, 2016 (in Chinese)  
宋晓雪. 巴丹吉林沙漠盐湖嗜(耐)盐苯酚降解菌的筛选及其降解特性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古大学硕士学位论文, 2016
- [17] Chen YZ. Screening and identification of zearalenone degrading bacteria and the research of related characteristics[D]. Urumqi: Master's Thesis of Xinjiang University, 2019 (in Chinese)  
陈禹竹. 玉米赤霉烯酮降解菌的筛选鉴定及其相关特性的研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆大学硕士学位论文, 2019
- [18] Chen Y. Domestication and screening of salt-tolerant bacteria and its application in the propylene oxide production wastewater[D]. Taiyuan: Master's Thesis of North University of China, 2014 (in Chinese)  
陈洋. 耐盐菌的驯化筛选及其在环氧丙烷生产废水中的应用[D]. 太原: 中北大学硕士学位论文, 2014
- [19] Chen YZ, Tang QY, Gu MY, Zhu J, Liu XJ, Cui WD, Zhang ZD. Screening and identification of a phenol degrading bacteria and the relevant degradation characteristics[J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 2019, 56(10): 1912-1920 (in Chinese)  
陈禹竹, 唐琦勇, 顾美英, 朱静, 刘晓静, 崔卫东, 张志东. 一株苯酚降解菌的筛选、鉴定及相关降解特性[J]. 新疆农业科学, 2019, 56(10): 1912-1920
- [20] Wang XT, Wang Y, Zhao CF, Ma SC, Gao YX, Zhang JJ, Si MR, Su T. Isolation, identification and characterization of polycyclic aromatic hydrocarbon degrading bacteria[J]. Journal of Qufu Normal University (Natural Science), 2019, 45(3): 92-96 (in Chinese)  
王新廷, 王芸, 赵传富, 马圣超, 高云霄, 张姣姣, 司美茹, 苏涛. 多环芳烃降解菌的筛选、鉴定及其特性[J]. 曲阜师范大学学报: 自然科学版, 2019, 45(3): 92-96
- [21] Kämpfer P, Arun AB, Frischmann A, Busse HJ, Young CC, Rekha PD, Chen WM. *Stappia taiwanensis* sp. nov., isolated from a coastal thermal spring[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2013, 63: 1350-1354
- [22] Weber CF, King GM. Physiological, ecological, and phylogenetic characterization of *Stappia*, a marine co-oxidizing bacterial genus[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(4): 1266-1276
- [23] Cui YW, Zhang HY, Lu PF, Peng YZ. Effects of carbon sources on the enrichment of halophilic polyhydroxyalkanoate-storing mixed microbial culture in an aerobic dynamic feeding process[J]. Scientific Reports, 2016, 6(1): 30766